

用于水环境重金属监测的微生物电化学传感器构建与运行效果分析

刘晓晓^{1,3}, 叶菲², 魏传超², 赵明杰^{1,3}, 栗勇田^{1,3}

1 河北省河道水质净化及生态修复重点实验室 秦皇岛天大环保研究院有限公司, 河北 秦皇岛 066000

2 燕山大学, 河北 秦皇岛 066000

3 秦皇岛市河道水质净化重点实验室, 河北 秦皇岛 066000

刘晓晓, 叶菲, 魏传超, 赵明杰, 栗勇田. 用于水环境重金属监测的微生物电化学传感器构建与运行效果分析. 生物工程学报, 2022, 38(5): 1903-1914.

LIU XX, YE F, WEI CC, ZHAO MJ, LI YT. Construction and performance analysis of a microbial electrochemical sensor for monitoring heavy metals in water environment. Chin J Biotech, 2022, 38(5): 1903-1914.

摘要: 本研究旨在开发基于微生物燃料电池 (microbial fuel cell, MFC) 的微生物电化学传感器对水环境重金属污染进行实时在线监测。构建微生物电化学传感器, 采用错流式布水方式、优化外阻值及外循环速率等参数, 在最优参数下分析重金属模拟废水浓度对电压的抑制情况。结果表明, 当外阻值为 130 Ω 、外循环速率为 1.0 mL/min 时, MFC 电化学传感器的性能最优。在此条件下对 1–10 mg/L 的 Cu^{2+} 、0.25–1.25 mg/L 的 Cd^{2+} 、0.25–1.25 mg/L 的 Cr^{6+} 和 0.25–1.00 mg/L 的 Hg^{2+} 均有响应, 60 min 内输出电压最大抑制率分别可达 92.95%、73.11%、82.76% 和 75.80%, 线性相关系数均大于 0.95, 且有较好的生物学重复性。该 MFC 电化学传感器具有良好的重金属检测性能, 可为实现水环境重金属污染实时在线监测技术的实际应用提供理论依据。

关键词: 微生物燃料电池; 微生物电化学传感器; 参数优化; 电压抑制率; 生物学重复性

Received: September 1, 2021; **Accepted:** January 6, 2022; **Published online:** January 13, 2022

Supported by: Key Research and Development Program of Hebei Province, China (19273905D); Introduce Foreign Intelligence Projects of Hebei Province, China (2019YX015B); National Innovation and Entrepreneurship Training Program for College Students, China (202110216045); Industrial Innovation and Entrepreneurship Team of Hebei Province, China (215A7608D)

Corresponding author: LI Yongtian. E-mail: lyt00168@126.com

基金项目: 河北省重点研发计划 (19273905D); 河北省引进国外智力项目 (2019YX015B); 国家级大学生创新创业训练计划 (202110216045); 河北省产业创新创业团队(215A7608D)

Construction and performance analysis of a microbial electrochemical sensor for monitoring heavy metals in water environment

LIU Xiaoxiao^{1,3}, YE Fei², WEI Chuanchao², ZHAO Mingjie^{1,3}, LI Yongtian^{1,3}

1 Qinhuangdao Tianda Environmental Protection Research Institute Co., Ltd., Key Laboratory of River Water Purification and Ecological Restoration in Hebei Province, Qinhuangdao 066000, Hebei, China

2 Yanshan University, Qinhuangdao 066000, Hebei, China

3 Key laboratory of River Water Purification Key Laboratory in Qinhuangdao City, Qinhuangdao 066000, Hebei, China

Abstract: A microbial fuel cell (MFC)-based microbial electrochemical sensor was developed for real-time on-line monitoring of heavy metals in water environment. The microbial electrochemical sensor was constructed with staggered flow distribution method to optimize the parameters such as external resistance value and external circulation rate. The inhibition of concentration of simulated heavy metal wastewater on voltage under optimal parameters was analyzed. The results showed that the best performance of MFC electrochemical sensor was achieved when the external resistance value was 130 Ω and the external circulation rate was 1.0 mL/min. In this case, the microbial electrochemical sensors were responsive to 1–10 mg/L Cu^{2+} , 0.25–1.25 mg/L Cd^{2+} , 0.25–1.25 mg/L Cr^{6+} and 0.25–1.00 mg/L Hg^{2+} within 60 minutes. The maximum rejection rates of the output voltage were 92.95%, 73.11%, 82.76% and 75.80%, respectively, and the linear correlation coefficients were all greater than 0.95. In addition, the microbial electrochemical sensor showed a good biological reproducibility. The good performance for detecting heavy metals by the newly developed microbial electrochemical sensor may facilitate the real-time on-line monitoring of heavy metals in water environment.

Keywords: microbial fuel cell (MFC); microbial electrochemical sensor; parameter optimization; voltage suppression rate; biological reproducibility

近年来, 工业化程度的不断加深引发了水体不同程度的污染, 其中 Cu^{2+} 、 Cr^{6+} 、 Cd^{2+} 和 Hg^{2+} 等重金属离子对水环境的污染尤为严重。七大水系中, 长江水系 Cd^{2+} 污染严重超标, 黄河水系总镉超标断面达 16.7%^[1]; 黄浦江上游饮用水源地 Hg^{2+} 超标, 与我国地表水环境质量标准 (GB3838-2002)^[2] 规定的三类水质标准相比, 干流超标率达 63.6%, 而支流达 100.0%^[3]。这些重金属污染将直接对人们的生命安全构成严重危害。

传统理化分析方法如原子吸收分光光度法、电感耦合等离子体-质谱法、紫外-可见光度法等^[4] 能够定量分析水体中有毒物质的种类与浓度, 但所测得的污染物浓度是水体中的总浓度, 不能反映活体生物的实际暴露浓度及各种有毒物质的综合效应; 此外, 操作过程复杂, 需要繁琐的样品前处理过程和专业人员操作^[5], 无法实时在线监测。

以特殊鱼类、藻类和发光细菌等为主体水生生物的传统生物毒性检测技术存在一定的缺

点, 例如对于毒性响应时间的滞后性严重, 自身结构和操作复杂、检测的稳定性差及设备运行维护成本高等^[6]。

微生物电化学传感器基于微生物燃料电池 (microbial fuel cell, MFC), 通过电化学活性菌的代谢作用将化学能转化为电能, 再利用电化学活性菌受重金属影响后活性下降导致其输出电信号衰减的性质, 表征重金属浓度, 进而实现对重金属的在线监测。

通过对 MFC 的构型及电路控制模式优化解决了微生物电化学传感器灵敏度低的问题, 有效缩短了响应时间, 缩短了传感器的恢复时间, 强化了微生物电化学传感器的检测范围, 为微生物电化学传感器实时检测预警水体中重金属的发展提供了理论和实验依据, 对推动微生物电化学传感器在水体实时检测各类污染物的发展应用有重要意义。

1 材料与方法

1.1 MFC 反应器微生物电化学传感器的构建与组装

微生物电化学传感器的反应器采用基础的双室 MFC。反应器阴极室和阳极室容积均为 64 cm³。阴极室阳极室之间由杜邦质子交换膜 (proton exchange membrane, PEM) 隔开。阴极

室和阳极室内放入等量的碳毡颗粒。两室上方钻有直径 6 mm 的孔, 插入石墨棒电极。反应器四角用螺丝拧紧固定。布水方式采用错流式。MFC 反应器构型图如图 1 所示。

搭建 4 个 MFC 反应器同时运行, 阴极基质液置于 2 L 储液罐中, 阳极基质液分别置于 4 个 1 L 储液罐中, 阳极储液罐需置于 37.5 °C 的恒温水浴锅内。阴极室与阳极室的 8 根进水管通过蠕动泵向反应室内进水, 出水回流至阴阳极基质液储液罐, 逆流式入水保证液体与阳极附着的微生物电化学活性菌充分接触。外接电阻箱连接反应器阴阳石墨电极, 通过数据采集卡和电化学工作站来接收电信号。该微生物电化学传感器装置如图 2 所示。

1.2 微生物电化学传感器的启动与运行

1.2.1 电化学活性菌的培养与驯化

电化学活性菌来源非常广泛, 从生活污水^[7]、厌氧污泥^[8]和水体沉积物^[9]等环境都可以得到。微生物电化学活性菌是一个混菌体系, 具有较高的多样性^[10], 但在活性污泥中的相对丰度较低, 需要通过培养和驯化, 使其成为优势菌种。

电化学活性菌的驯化过程分两个步骤, 第一步为从兼性菌到厌氧菌的驯化, 第二步为厌氧菌到电化学活性菌 (厌氧产电菌) 的驯化。

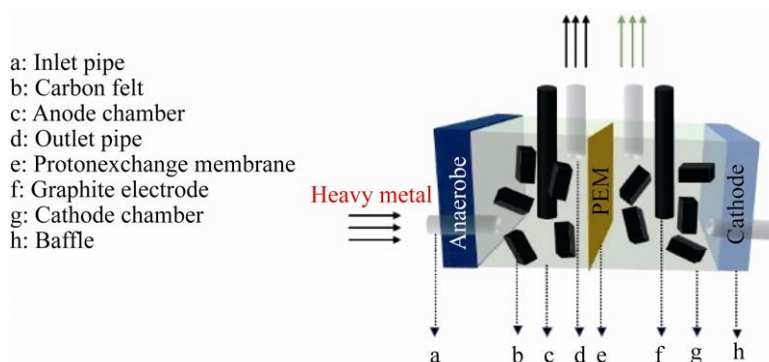


图 1 微生物燃料电池反应室构型

Figure 1 Configuration of microbial fuel cell reaction chamber.

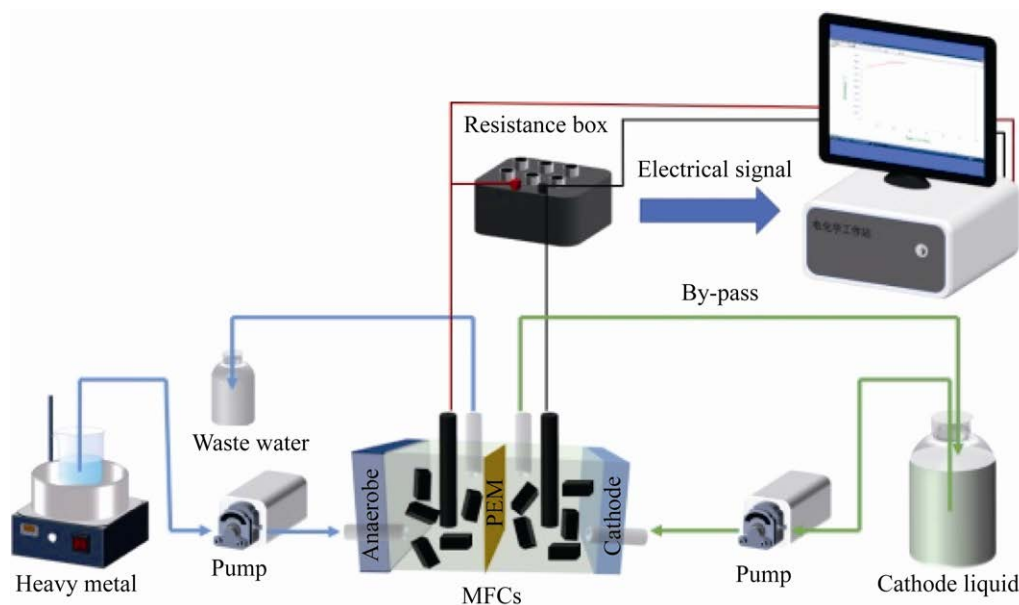


图2 实验装置示意图

Figure 2 Microbial fuel cell reaction chamber configuration.

(1) 厌氧菌驯化: 取某污水处理厂 SBR 工艺集泥池的活性污泥 400 mL 置于 1 L 储液罐中, 将 600 mL 阳极液加入 12.5 mL 微量元素混合后通入氮气 15 min 后加入储液罐, 储液罐上安装铝箔气体采样袋, 放置于 37.5 °C 恒温水浴锅中水浴加热进行厌氧驯化。待采样袋存在气体时, 说明厌氧菌厌氧发酵产生甲烷, 外观上污泥从红褐色浑浊液体转变为黑色底泥并沉积在储液罐底部, 上部为上清液, 即厌氧菌完成驯化^[11]。

(2) 电化学活性菌驯化: 厌氧菌中部分产电菌 (如希瓦氏菌、地杆菌等) 可以在阳极氧化有机物, 产生 H^+ 进行产电。利用 MFC 电极富集法^[11] 对此类产电菌进行富集驯化。富集驯化过程详见 1.2.3, 具有电化学活性的厌氧菌在 MFC 阳极电极和碳毡颗粒上富集。

1.2.2 溶液配制

阳极基质液: 在微生物电化学传感器反应器启动运行的过程中, 阳极液需定期更换, 每

次配制 1 000 mL, 并加入 12.5 mL 微量元素溶液。阳极基质液不易保存, 为防止有机物损失需现用现配^[11]。阳极基质液成分如表 1 所示, 微量元素溶液成分如表 2 所示。

阴极基质液: $K_3Fe(CN)_6$ 8.320 g/L, NaH_2PO_4 1.930 g/L, Na_2HPO_4 1.385 g/L。

基质液: $NaAc$ 1.650 g/L, NH_4Cl 0.310 g/L, 通入氮气 15–20 min (基质液用作配制人工重金属废水及用作冲洗液)。也需要现用现配^[12]。

表1 阳极液成分

Table 1 Anhydride composition

Composition	Content (mg/L)
$CH_3COONa \cdot 3H_2O$	1.650
NH_4Cl	0.310
$NaH_2PO_4 \cdot 12H_2O$	1.930
$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$	1.385
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.100
$NaHCO_3$	1.000
$CaCl_2$	0.100
KCl	0.100

表 2 微量元素溶液成分

Table 2 Anhydride composition

Composition	Content (mg/L)
FeSO ₄ ·7H ₂ O	100
ZnCl ₂	70
MnCl ₂ ·4H ₂ O	50
H ₃ BO ₃	6
CaCl ₂	100
CuCl ₂ ·2H ₂ O	2
NiCl ₂ ·6H ₂ O	24
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	36
Na ₂ WO ₄ ·2H ₂ O	24
CoCl ₂ ·6H ₂ O	238

1.2.3 微生物电化学传感器的接种与挂膜

完成微生物电化学传感器的搭建后, 双室 MFC 阳极室内石墨电极及碳毡需要附着一层生物膜, 生物膜上的电化学活性菌将化学能转化为电信号, 传输至电脑上, 所以将构建好的微生物电化学传感器的阳极储液罐更换为驯化好的活性污泥。对反应器阳极进行接种, 通过泵向反应器内流动活性污泥瓶中的上清液。过程持续 1 周左右^[13], 待至电化学工作站采集的输出电压连续 3 d 稳定不变即完成厌氧产电菌的附着, 可将驯化后的污泥更换为阳极基质液。在此期间, 一天更换一次阳极基质液, 每次更换 330 mL, 保证阳极反应室中的厌氧产电菌能得到足够的有机物。

1.3 微生物电化学传感器的参数优化

1.3.1 外循环速率优化

调节蠕动泵循环速率可以保持反应室内生物膜的活性及灵敏度。流速过慢会导致阳极室内生物膜过厚, 影响内部微生物对重金属的接触; 流速过快则会导致生物膜附着过慢以及生物膜过薄, 产电性能较低, 检测结果差。通过测量反应器在不同循环流速下的电压值及电流值, 计算出不同外电阻及不同循环流速下的电

功率, 分析可得出运行状态最佳的循环速率。

1.3.2 最佳外阻确定

在最佳循环速率条件下, 利用伏安法测电阻。利用电化学工作站测得不同电阻值下的电压和电流值, 经计算 MFC 反应器输出功率最大时的电阻即为最佳外阻。

1.4 微生物电化学传感器的恢复性能测试

恢复性能指的是微生物电化学传感器在进行一次重金属毒性测试后剔除重金属后能够达到或接近最初稳定期的能力。如果微生物电化学传感器在经历第一次监测后不能够恢复至原来的水平, 其应用将会大打折扣, 不能开发为连续在线的污染预警系统, 因此对于提高传感器的恢复性能是十分关键的。

利用微生物电化学传感器检测重金属离子之前, 检测基本条件是反应器电压保持稳定, 代表反应器内附着的厌氧产电菌微生物的活性基本相同, 产电性能也相当。传感器每次检测后需要充分冲洗 20 min, 冲洗液为基质液。冲洗反应室的目的是清除上一次检测残留的重金属离子, 防止残留的重金属离子持续危害反应室内附着的厌氧产电菌, 对下一次检测产生影响和误差^[9]。若传感器检测高浓度重金属离子造成厌氧产电菌受到抑制作用较大, 无法恢复至原始电压并完成下次检测, 可以更换至外电阻相同和电压接近的传感器反应室继续进行下一次测试。

1.5 微生物电化学传感器重金属离子毒性测试

主要利用反应室内附着的电化学活性菌, 考察铜、镉、铬和汞等重金属离子对微生物电化学传感器的电压及电功率的抑制率。用含不同浓度重金属离子的模拟人工废水研究其对微生物电化学毒物传感器电压的抑制率。重金属毒性传感测试的检测时间为 60 min。人工模拟

重金属废水为加入不同浓度重金属的基质液。

1.6 生物性重复试验

“可重复性原则”是科学实验的一个重要原则^[11]。生物学实验由于所面对的对象和现象的复杂性，更增加了生物学重复的重要性的必要性。为了验证微生物电化学传感器重金属毒性测试的可重复性，搭建 3 组实验装置同时进行 3 次重金属毒性测试平行实验，分析多次平行试验的误差。

2 结果与分析

2.1 微生物电化学传感器的接种与挂膜过程

通过蠕动泵向反应器内泵入活性污泥瓶中的上清液，电化学活性菌的附着过程启动电压变化如图 3 所示，反应器启动 3 d 后开始产电，5 d 左右达到稳定，电压维持在 0.4 V 左右。这是因为 MFC 微生物附着较缓慢，阴极电极无催化剂修饰电子需要反复往返在电极表面进行积累，所以驯化时间较长。继续向反应器内泵入

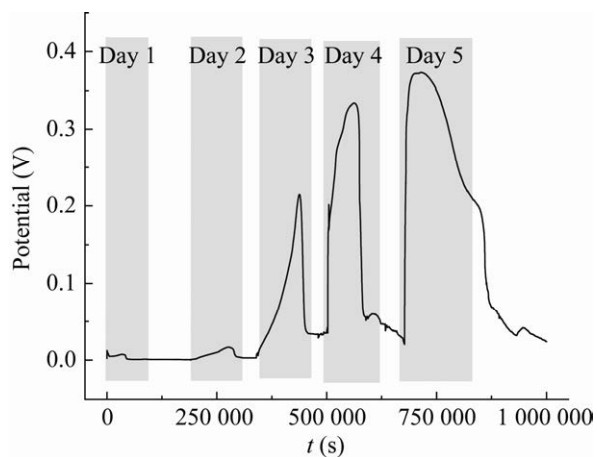


图 3 电化学活性菌附着过程启动电压变化

Figure 3 Change of starting voltage during the attachment process of electrochemically active bacteria.

活性污泥瓶中的上清液，结果显示输出电压最终稳定在 0.45 V 左右 (图 4)，表示挂膜完成。

2.2 微生物电化学传感器运行参数优化

2.2.1 外循环速率优化

测试蠕动泵在电阻值为 8 000 Ω 、4 000 Ω 、2 000 Ω 、1 000 Ω 、800 Ω 、500 Ω 、300 Ω 、200 Ω 、150 Ω 、100 Ω 、80 Ω 、50 Ω 、30 Ω 下不同循环流速的电压和电流，并计算输出功率。得出不同外阻、不同蠕动泵循环速率下电压/电流数据 (表 3)。

通过测量反应器在不同循环流速下的电压值及电流值，可以计算不同外电阻及不同循环流速下的电功率。分析可得反应器输出功率随蠕动泵的循环流速增加而升高，当循环流速达到 1.0 mL/min 时反应器的运行状态最佳，工作状态最好。当蠕动泵的循环流速继续增加至 1.2 mL/min 和 1.5 mL/min 时，反应器的输出功率提升并不明显。所以确定蠕动泵的最佳循环流速为 1.0 mL/min，在此条件下可以达到最好的运行效果。

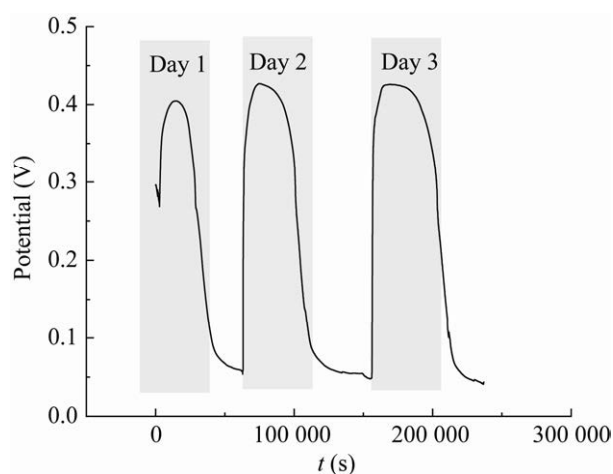


图 4 微生物燃料电池稳定运行输出电压情况

Figure 4 Stable operating output voltage of microbial fuel cell.

表 3 不同蠕动泵循环速率下电压/电流(V/ μ A)Table 3 Voltage/current at different peristaltic pump circulating rates (V/ μ A)

Resistance (Ω)	Circulation rate (mL/min)					
	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2	1.5
8 000	0.670 1/84	0.664 0/83	0.669 2/84	0.674 0/87	0.675 7/85	0.675 0/85
4 000	0.660 0/166	0.653 0/154	0.657 5/165	0.662 0/167	0.665 8/168	0.664 8/162
2 000	0.636 4/321	0.628 0/317	0.633 0/320	0.638 0/322	0.642 0/324	0.642 0/324
1 000	0.594 0/600	0.587 0/593	0.592 5/599	0.596 0/602	0.600 0/606	0.599 0/605
800	0.576 3/723	0.569 3/714	0.575 0/726	0.579 0/726	0.582 0/730	0.580 0/728
500	0.530 0/1 061	0.525 0/1 050	0.531 0/1 064	0.534 7/1 070	0.537 0/1 075	0.536 0/1 074
300	0.460 0/1 539	0.456 0/1 527	0.465 0/1 557	0.470 0/1 574	0.471 4/1 580	0.471 6/1 582
200	0.387 0/1 940	0.390 0/1 955	0.400 0/2 012	0.405 0/2 036	0.410 0/2 057	0.409 2/2 055
150	0.330 0/2 200	0.338 0/2 250	0.350 0/2 342	0.356 0/2 382	0.360 0/2 409	0.360 0/2 410
100	0.250 0/2 510	0.260 0/2 616	0.270 0/2 710	0.283 0/2 841	0.287 0/2 887	0.287 0/2 887
80	0.203 5/2 530	0.214 0/2 672	0.226 4/2 825	0.240 3/3 001	0.246 7/3 084	0.243 8/3 048
50	0.140 0/2 850	0.150 0/3 020	0.160 0/3 185	0.170 0/3 408	0.174 0/3 472	0.171 0/3 421
30	0.086 0/2 830	0.097 0/3 183	0.100 0/3 400	0.110 0/3 670	0.113 6/3 740	0.110 0/3 695

2.2.2 最佳外阻确定

在 MFC 反应器启动后, 利用伏安法测电阻, 之后依靠电化学工作站测得不同电阻值下的电压, 经计算可知 MFC 反应器的最大功率为 9.31×10^{-4} W, 对应最佳外电阻为 130 Ω 。即将 4 个反应器的外电阻都连接 130 Ω , 保证输出电压一致。伏安法确定最佳外电阻数据如图 5 所示。

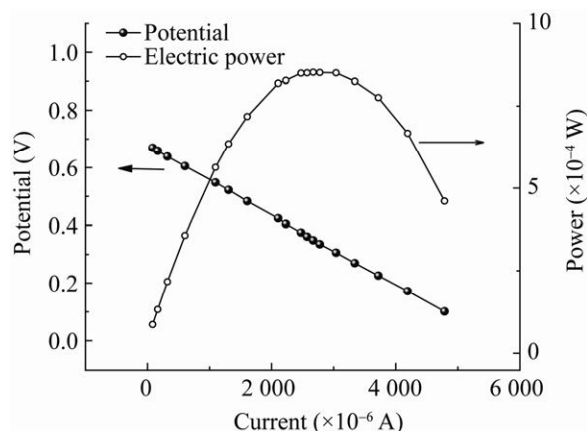


图 5 MFC 电压及功率变化曲线

Figure 5 Voltage and power curve of MFC.

2.3 微生物电化学传感器的稳定性测试

对搭建完成的传感器进行重金属离子检测, 加入 0.75 mg/L 的镉离子进行检测, 检测后冲洗反应器接回阳极液。第 2 天重新更换阳极液体, 待稳定运行恢复至平稳电压继续检测 0.75 mg/L 的镉离子。结果如图 6 所示, 第 1 次

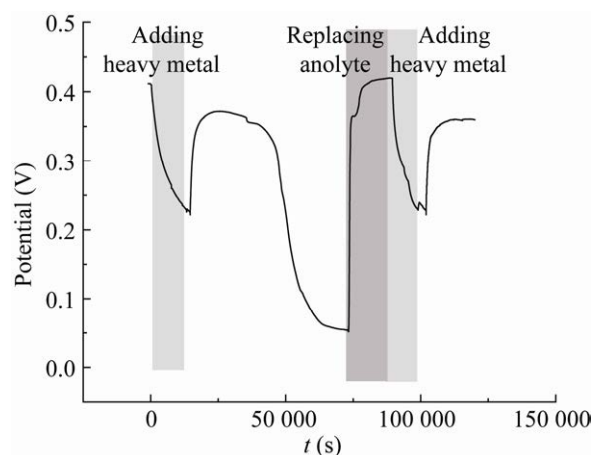


图 6 MFC 传感器恢复性能测试曲线

Figure 6 Test curve of MFC sensor recovery performance.

毒性检测完成后, 换回阳极液电压恢复正常, 可以完成第 2 次毒性检测, 第 2 次毒性检测后, 电压亦可恢复正常, 微生物电化学传感器恢复性能较好。

2.4 微生物电化学传感器重金属离子毒性测试

2.4.1 微生物电化学传感器 Cu^{2+} 毒性测试

分别用 Cu^{2+} 浓度为 1、2、4、6、10 mg/L 的人工废水研究加入 Cu^{2+} 对微生物电化学传感器电压的抑制率。结果显示, 随着 Cu^{2+} 浓度的增加, 输出电压下降速率变快, 说明高浓度铜离子会抑制阳极反应室内微生物的活性或导致微生物失活, 导致微生物燃料电池输出电压的下降。 Cu^{2+} 对电压的抑制率与铜离子浓度成正比。 Cu^{2+} 浓度达到 10 mg/L 时, 其对电压的抑制率为 92.95%, 且提高铜离子浓度时电压抑制率基本不变, 因此实验中 Cu^{2+} 的检测范围为 0–10 mg/L, Cu^{2+} 的最大抑制率达到 92.95%。 Cu^{2+} 检测范围内的线性拟合方程为:

$$Y_{\text{Cu}} = 13.66 + 7.89X_{\text{Cu}}$$

式中: Y_{Cu} 为 Cu^{2+} 对微生物电化学传感器的输出电压抑制率; X_{Cu} 为 Cu^{2+} 浓度, 以下公式中未知数代表均一致。相关系数 R^2 为 1.00, 表明

传感器的相关性能良好。 Cu^{2+} 对传感器的输出电压抑制率如图 7 所示。

2.4.2 微生物电化学传感器 Cd^{2+} 毒性测试

分别用 Cd^{2+} 浓度为 0.25、0.50、0.75、1.00、1.25 mg/L 的人工废水研究加入 Cd^{2+} 对微生物电化学传感器电压的抑制率。结果显示, 随着 Cd^{2+} 浓度的增加, 输出电压下降速率变快, 说明高浓度镉离子会抑制阳极反应室内厌氧产电菌的活性或导致微生物的酶失活, 导致微生物燃料电池输出电压的下降。 Cd^{2+} 对电压的抑制率与离子浓度成正比。在 Cd^{2+} 浓度过高时, 电压抑制率基本不变时认为传感器失效。 Cd^{2+} 浓度达到 1.25 mg/L 时, 其对电压的抑制率为 73.11%, 且提高镉离子浓度时电压抑制率基本不变, 因此实验中镉离子的检测范围为 0–1.25 mg/L, 最大抑制率达到 73.11%。 Cd^{2+} 检测范围内的线性拟合方程为:

$$Y_{\text{Cd}} = 7.09 + 52.96X_{\text{Cd}}$$

式中: Y_{Cd} 为 Cd^{2+} 对微生物电化学传感器的输出电压抑制率; X_{Cd} 为 Cd^{2+} 浓度, 相关系数 R^2 为 0.98, 表明传感器对镉离子的检测性能较好。镉离子对传感器的输出电压抑制率如图 8 所示。

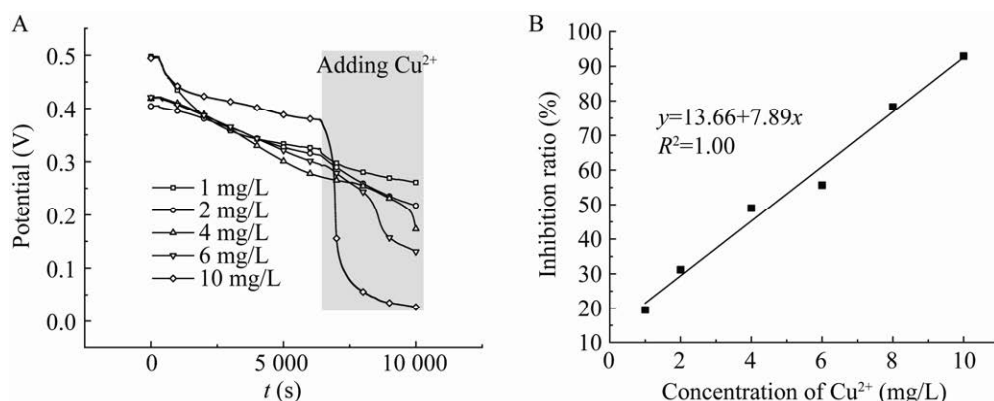


图 7 Cu^{2+} 对 MFC 传感器的毒性测试曲线

Figure 7 Toxicity test curve of Cu^{2+} to MFC sensor. (A) Voltage decline curve upon adding different concentrations of Cu^{2+} . (B) The change of voltage inhibition rate of Cu^{2+} and its fitting curve.

2.4.3 微生物电化学传感器 Cr^{6+} 毒性测试

分别用 Cr^{6+} 浓度为 0.30、0.50、0.75、1.00、1.25 mg/L 的人工废水研究加入 Cr^{6+} 对微生物电化学传感器电压的抑制率。结果显示,随着 Cr^{6+} 浓度的增加,输出电压下降速率变快,说明一定浓度 Cr^{6+} 会抑制阳极反应室内微生物的活性或导致微生物的酶失活。对电压的抑制率与 Cr^{6+} 浓度成正比。当 Cr^{6+} 浓度过高时,电压抑制率基本不变时认为传感器失效。在离子浓度达到 1.25 mg/L 时,其对输出电压的抑制率为

82.76%,且提高 Cr^{6+} 浓度时电压抑制率基本不变,因此实验中 Cr^{6+} 的检测范围为 0–1.25 mg/L, Cr^{6+} 的最大抑制率达到 82.76%。 Cr^{6+} 处于检测范围内的线性拟合方程为:

$$Y_{\text{Cr}} = 3.55 + 65.86X_{\text{Cr}}$$

式中: Y_{Cr} 为 Cr^{6+} 对微生物电化学传感器的输出电压抑制率; X_{Cr} 为铬离子浓度,相关系数 R^2 为 0.97,表明传感器对铬离子的实时检测性能良好。 Cr^{6+} 对传感器的输出电压抑制率如图 9 所示。

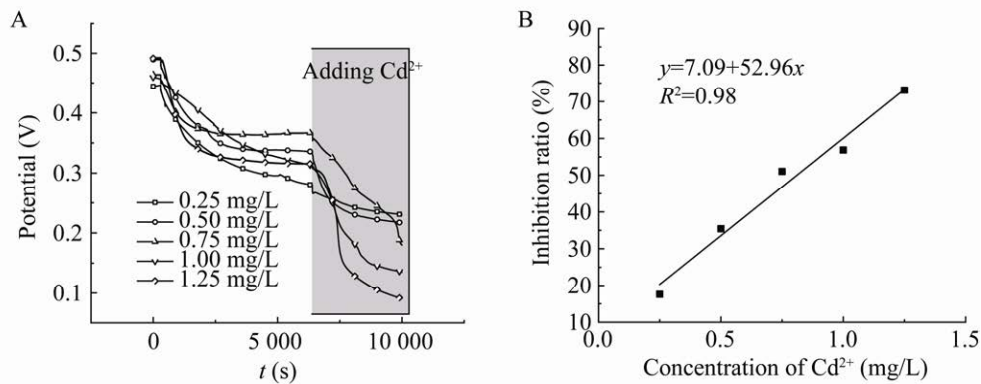


图 8 Cd^{2+} 对 MFC 传感器的毒性测试曲线

Figure 8 Toxicity test curve of Cd^{2+} to MFC sensor. (A) Voltage decline curve upon adding different concentrations of Cd^{2+} . (B) The change of voltage inhibition rate of Cd^{2+} and its fitting curve.

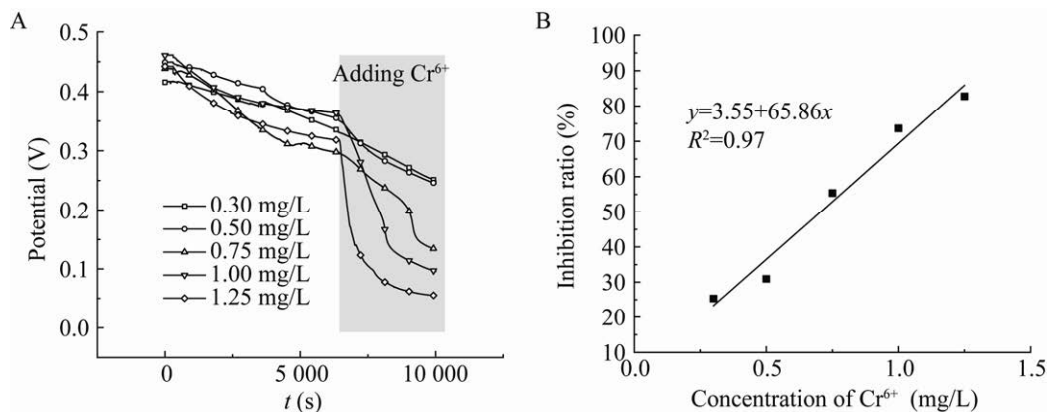


图 9 Cr^{6+} 对 MFC 传感器的毒性测试曲线

Figure 9 Toxicity test curve of Cr^{6+} to MFC sensor. (A) Voltage decline curve upon adding different concentrations of Cr^{6+} . (B) The change of voltage inhibition rate of Cr^{6+} and its fitting curve.

2.4.4 微生物电化学传感器 Hg^{2+} 毒性测试

分别用 Hg^{2+} 浓度为 0.25、0.50、0.75、1.00 mg/L 的人工废水研究加入 Hg^{2+} 对微生物电化学传感器输出电压的抑制率。结果显示, 随着 Hg^{2+} 浓度的增加, 输出电压下降速率变快, 说明 Hg^{2+} 会抑制阳极反应室内微生物的活性或导致微生物的酶失活, 导致微生物燃料电池输出电压的下降。 Hg^{2+} 对输出电压的抑制率与 Hg^{2+} 浓度成正比。本实验在离子浓度达到 1.00 mg/L 时, 对传感器内的厌氧产电菌产生强烈的生物毒性, 造成其产电性能下降, 其对电压的抑制率为 75.80%, 因此实验中的检测范围为 0–1.00 mg/L, 最大抑制率达到 75.80%。 Hg^{2+} 检测范围内的线性拟合方程为:

$$Y_{\text{Hg}} = 19.02 + 57.60X_{\text{Hg}}$$

式中: Y_{Hg} 为 Hg^{2+} 对微生物电化学传感器的输出电压抑制率; X_{Hg} 为 Hg^{2+} 浓度, 相关系数 R^2 为 0.96, 表明传感器对 Hg^{2+} 的实时在线检测性能良好。 Hg^{2+} 对传感器的输出电压抑制率如图 10 所示。

2.4.5 微生物电化学传感器生物学重复性测试

重复上述毒性测试实验 3 次, 分别记录

3 次实验中微生物电化学传感器在不同浓度 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cr^{6+} 、 Hg^{2+} 下对输出电压的抑制率, 并分析生物学重复实验的误差。3 次重复实验结果显示, 该微生物电化学传感器 60 min 内对重金属离子毒性测试的可重复较好, 相对标准偏差基本控制在 5% 以内。重复实验输出电压抑制率及重复性误差如表 4 所示。

3 结论

本研究成功开发了基于 MFC 的微生物电化学传感器用于水环境重金属检测。验证了该传感器重金属毒性测试后的恢复性能良好, 可进行多次重复性重金属毒性测试。对 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cr^{6+} 、 Hg^{2+} 4 种重金属离子进行了测试: Cu^{2+} 的检测范围为 0–10 mg/L, 最大抑制率达到 92.95%; Cd^{2+} 的检测范围为 0–1.25 mg/L, 最大抑制率达到 73.11%; Cr^{6+} 的检测范围为 0–1.25 mg/L, 最大抑制率达到 82.76%, Hg^{2+} 检测范围为 0–1.0 mg/L, 最大抑制率可达 75.80%。 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cr^{6+} 、 Hg^{2+} 4 种重金属离子对输出电压抑制率拟合曲线的相关系数均大于 0.95。另外, 该微生物电

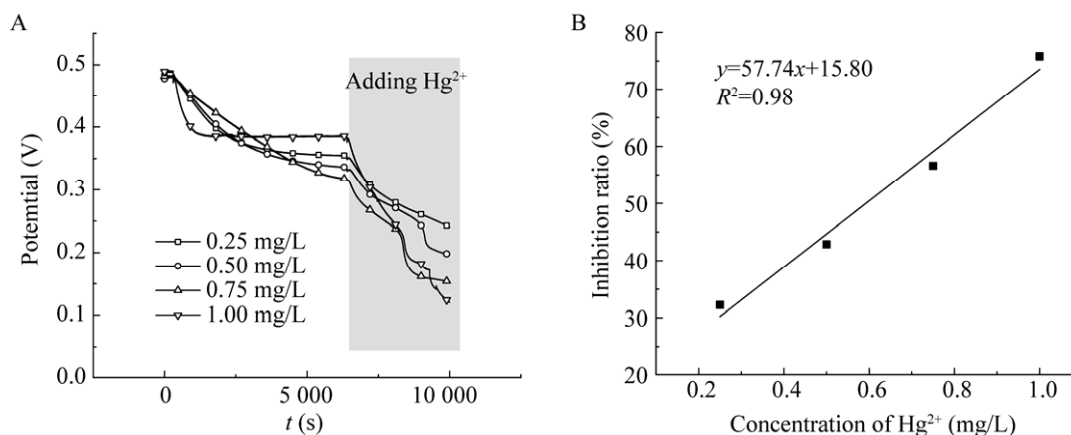


图 10 Hg^{2+} 对 MFC 传感器的毒性测试曲线

Figure 10 Toxicity test curve of Hg^{2+} to MFC sensor. (A) Voltage decline curve upon adding different concentrations of Hg^{2+} . (B) The change of voltage inhibition rate of Hg^{2+} and its fitting curve.

表4 生物学重复实验输出电压抑制率及误差分析表

Table 4 Output voltage inhibition rate and error analysis of biologically repeated experiment

Heavy metal	Concentration (mg/L)	Inhibition rate (%)			Standard deviation (%)	Relative standard deviation (%)
		Number of experiment				
		1	2	3		
Cu ²⁺	10	92.95	93.15	89.15	2.25	2.46
	6	55.65	57.44	56.85	0.91	1.61
	4	48.97	46.00	44.00	2.50	5.40
	2	31.19	30.12	31.13	0.60	1.95
	1	19.54	19.32	18.86	0.35	1.80
Cr ⁶⁺	1.25	82.76	85.26	83.20	1.33	1.59
	1.00	73.66	75.11	74.79	0.76	1.02
	0.75	55.40	57.44	56.85	1.05	1.86
	0.50	30.91	32.26	29.20	1.53	4.98
	0.30	25.30	24.37	24.58	0.49	1.97
Cd ²⁺	1.25	64.56	62.58	66.38	1.90	2.95
	1.00	56.85	59.86	57.64	1.56	2.69
	0.75	35.44	35.12	35.00	0.23	0.65
	0.50	21.07	23.77	21.04	1.57	7.14
	0.25	17.61	18.05	17.79	0.22	1.24
Hg ²⁺	1.00	75.80	76.20	78.26	1.32	1.72
	0.75	51.60	51.03	55.20	2.26	4.30
	0.50	42.87	44.00	43.86	0.62	1.41
	0.25	32.26	35.00	35.10	1.61	4.72

化学传感器的生物学重复性良好, 相对标准偏差基本控制在5%以内, 其对重金属离子的检测效果相对稳定高效。

REFERENCES

- [1] 周启艳, 李国葱, 唐植成. 我国水体重金属污染现状与治理方法研究. 轻工科技, 2013, 29(4): 98-99.
Zhou QY, Li GC, Tang ZC. Status and treatment of heavy metal pollution in water in China. Light Ind Sci Technol, 2013, 29(4): 98-99 (in Chinese).
- [2] GB 3838-2002, 地表水环境质量标准. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
GB 3838-2002, Environmental quality standard for surface water. Beijing: China Environmental Science Press, 2002 (in Chinese).
- [3] 贺志鹏, 宋金明, 张乃星, 等. 南黄海表层海水重金属的变化特征及影响因素. 环境科学, 2008, 29(5): 1153-1162.
He ZP, Song JM, Zhang NX, et al. Variation characteristics and controlling factors of heavy metals in the south Yellow Sea surface seawaters. Environ Sci, 2008, 29(5): 1153-1162 (in Chinese).
- [4] 王广鹤, 瞿璟琰, 卢湘岳, 等. 水质毒性快速检测技术及其发展趋势. 环境科技, 2008, 21(S2): 27-29, 31.
Wang GH, Qu JY, Lu XY, et al. Technology of rapid assay for water toxicity and its development trends. Environ Sci Technol, 2008, 21(S2): 27-29, 31 (in Chinese).
- [5] 鲁纳, 林莉莉, 肖恩荣, 等. 微生物燃料电池(MFC)型生物毒性传感器用于重金属离子检测的研究进展. 生态与农村环境学报, 2021, 37(1): 1-9.
Lu R, Lin LL, Xiao ER, et al. Review of development in heavy metals monitoring with microbial fuel cell-based toxicity biosensor. J Ecol Rural Environ, 2021, 37(1): 1-9 (in Chinese).
- [6] 常定明. 重金属离子在微生物燃料电池阳极中的行

- 为[D]. 上海: 华东理工大学, 2015.
- Chang DM. The behavior of heavy metal ions in microbial fuel cells[D]. Shanga: East China University of Science and Technology, 2015 (in Chinese).
- [7] Bruno JG, Yu H. Immunomagnetic-electrochemiluminescent detection of *Bacillus anthracis* spores in soil matrices. *Appl Environ Microbiol*, 1996, 62(9): 3474-3476.
- [8] Feng C, LiuY, Li Q, et al. Quaternary ammonium compound in anolyte without functionalization accelerates the startup of bioelectrochemical systems using real wastewater. *Electrochimica Acta*, 2016, 188: 801-808.
- [9] Kim JR, Min B, Logan BE. Evaluation of procedures to acclimate a microbial fuel cell for electricity production. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2005, 68(1): 23-30.
- [10] 李田. 基于微生物电化学信号响应的污染预警预报研究[D]. 天津: 南开大学, 2019.
- Li T. Study on the early warning and prediction of pollution based on the microbial electrochemical signal response[D]. Tianjin: Nankai University, 2019 (in Chinese).
- [11] 宋建华, 杨永刚, 胡文哲, 等. 活性污泥中电活性微生物的富集筛选研究进展. *微生物学通报*, 2019, 46(8): 2090-2100.
- Song JH, Yang YG, Hu WZ, et al. Advances of enrichment and screening of electroactive microorganisms from activated sludge. *Microbiol China*, 2019, 46(8): 2090-2100 (in Chinese).
- [12] 肖显静. 生态学实验“可重复”困难的原因及对策. *科技导报*, 2018, 36(6): 8-16.
- Xiao XJ. The “repeatability” difficulty in ecological experiment. *Sci Technol Rev*, 2018, 36(6): 8-16 (in Chinese).
- [13] Wang HQ, Wei LL, Yang CJ, et al. A pyridine-Fe gel with an ultralow-loading Pt derivative as ORR catalyst in microbial fuel cells with long-term stability and high output voltage. *Bioelectrochemistry*, 2020, 131: 107370.

(本文责编 郝丽芳)